

APPROCHE MORPHOLOGIQUE DE LA PERMÉABILITÉ TUBULAIRE RÉNALE CHEZ LE RAT

THÈSE

présentée à la Faculté de médecine
de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur en médecine
par

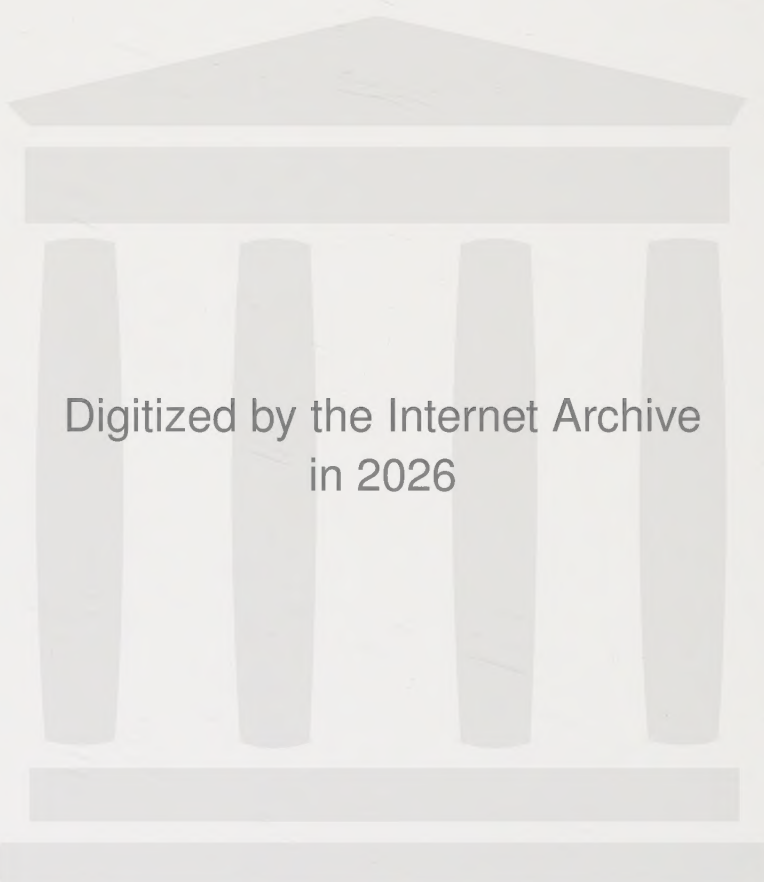
Claude-Emile PRICAM
de Genève-Ville (Genève)

Texte condensé de la thèse No. 3411, approuvée par la
Faculté de médecine. Des copies en microfilms du texte
complet peuvent être obtenues auprès de la Bibliothèque
publique et universitaire de Genève.

Le texte complet peut être consulté à cette bibliothèque
ou à la Bibliothèque nationale suisse à Berne.

Thèse No. 3411

Genève
Service Rapide Offset
1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545925_0003

APPROCHE MORPHOLOGIQUE

PERMÉABILITÉ TUBULAIRE RÉNALE CHEZ LE RAT

THÈSE

présentée à la Faculté de médecine
de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur en médecine

par

Claude-Emile PRICAM

de Genève-Ville (Genève)

Texte condensé de la thèse No. 3411, approuvée par la
Faculté de médecine. Des copies en microfilms du texte
complet peuvent être obtenues auprès de la Bibliothèque
publique et universitaire de Genève.

Le texte complet peut être consulté à cette bibliothèque
ou à la Bibliothèque nationale suisse à Berne.

Thèse No. 3411

Genève
Service Rapide Offset
1974

La Faculté de Médecine, sur le préavis du professeur
Lelio ORCI autorise l'impression de la présente thèse, sans
prétendre par là émettre d'opinion sur les propositions qui
y sont énoncées.

Genève, le 6 août 1974

Le doyen :

Professeur William Geisendorf

Thèse No 3411



Qu'il me soit permis de rendre hommage à la mémoire du Professeur Charles Rouiller sous l'égide duquel j'ai eu la chance d'entreprendre mes recherches.

J'exprime ma vive gratitude au Professeur Lelio Orci qui m'a dirigé et conseillé tout au long de ce travail ainsi qu'au Professeur Alain Perrelet qui n'a ménagé pour moi ni son temps ni son savoir.

Ma gratitude va également à Mesdemoiselles Fabienne Humbert et Jacqueline Rial pour leur collaboration efficace et toujours agréable.

Enfin, je remercie chaleureusement Madame M. Sidler-Ansermet, Mademoiselle I. Bernard et Monsieur N. Gerber, sans lesquels cet ouvrage n'aurait pu se concrétiser.

Les recherches rapportées dans ce travail ont été réalisées grâce au support du Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique, crédit no 3.8080.72.

TABLE DES MATIERES

<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>MATERIEL ET METHODES</u>	3
<u>RESULTATS</u>	4
A. Microscopie électronique conventionnelle	
B. Cryodécapage	6
<u>DISCUSSION</u>	8
<u>RESUME</u>	11
<u>TABLEAU</u>	13
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	14

INTRODUCTION

Les épithéliums forment des couches ininterrompues de cellules qui limitent des cavités ou la surface de l'organisme. Les épithéliums présentent une certaine résistance à la diffusion de substances qui est attribuée en grande partie à la présence de jonctions particulières entre les cellules, jonctions ayant la propriété d'oblitérer les espaces intercellulaires. Ces jonctions, appelées jonctions serrées, sont des zones où les feuillettes externes des membranes unitaires de deux cellules adjacentes sont fusionnés sans interposition d'espace extracellulaire (23). De telles jonctions sont présentes dans tous les épithéliums, mais leur forme et leur extension varient considérablement d'un tissu à l'autre; l'hypothèse a été proposée que le degré de perméabilité d'un épithélium au passage de substances pourrait être fonction du développement des jonctions serrées entre les cellules (13,20). Les premiers auteurs qui ont décrit les jonctions serrées présentes au niveau des tubules rénaux avaient déjà été frappés par le fait que ces jonctions montrent un développement différent suivant le segment tubulaire considéré (10). Au niveau du tube proximal, la jonction serrée est très peu développée (la fusion des membranes cellulaires est souvent réduite à une mince zone de 200 à 400 Å). Au niveau de l'anse grêle de Henle (7), la jonction serrée intéresse également une zone très réduite de la membrane plasmique, alors qu'au niveau du tube distal aussi bien qu'au niveau du tube collecteur, la jonction serrée présente une zone de fusion membranaire de grande extension. Farquhar et Palade (10) qui sont les premiers à avoir étudié en détail ces jonctions ont tenté de démontrer que des

aspects morphologiques aussi dissemblables pouvaient correspondre à des propriétés de perméabilité différentes. Ces auteurs ont étudié morphologiquement la répartition de traceurs de l'espace extracellulaire, substances visibles en microscopie électronique qui peuvent migrer dans cet espace sans diffuser dans les cellules. Dans ce but, ils ont provoqué une hémoglobinurie expérimentale chez l'animal en injectant de l'hémoglobine par voie intrapéritonéale. L'hémoglobine, filtrée par le glomérule, est concentrée dans les tubes du rein au cours de la réabsorption d'eau. Elle apparaît en microscopie électronique comme une substance dense homogène (densité électronique due au fer du pigment respiratoire) qui remplit les lumières tubulaires. Dans tous les segments des tubes rénaux, les molécules d'hémoglobine apparaissent stoppées contre la ligne de fusion des membranes cellulaires adjacentes représentant la jonction serrée. Farquhar et Palade en ont déduit que les jonctions serrées pourraient agir comme une barrière à la diffusion de substances, tout au moins celles d'une taille moléculaire égale ou supérieure à celle de l'hémoglobine (PM 64.500). Cependant, lorsque l'on a testé la perméabilité des jonctions serrées des tubes rénaux vis-à-vis de ions (sodium, potassium, chlore) en mesurant la résistance électrique transépithéliale d'un segment donné, on s'est aperçu que la résistance électrique du tube proximal était basse (3,15), alors que celle du tube collecteur était beaucoup plus élevée (16), celle du tube distal se situant entre les deux (21). La faible résistance transépithéliale rencontrée au niveau du tube proximal indique que la jonction serrée n'est pas entièrement imperméable aux ions. A la suite de Farquhar et Palade, Whittembury et Rawlins (33), puis Tisher et Yarger (31) ont repris l'étude morphologique de la perméabilité des jonctions serrées à l'aide d'un traceur inorganique de faible poids moléculaire, le lanthane (sous forme colloïdale ou ionique). Après avoir introduit du lanthane par

microinjection dans la lumière des tubules rénaux, avant ou après la fixation, ces auteurs ont pu montrer que ce traceur se comporte de manière différente selon le segment tubulaire considéré. Le lanthane traverse librement la jonction serrée du tube proximal et celle du tube distal alors qu'il ne pénètre pas la jonction serrée du tube collecteur.

A la suite de ces divers travaux, on pouvait donc tirer les conclusions suivantes : l'aspect ultrastructural des jonctions serrées, leur résistance électrique et leur perméabilité vis-à-vis du lanthane varient le long des tubes rénaux. Dans ces travaux cependant, les données ultrastructurales reposaient essentiellement sur une analyse qualitative des jonctions serrées. C'est une technique récente de microscopie électronique, le cryodécapage, qui nous a permis de réévaluer de façon quantitative l'aspect ultrastructural de la perméabilité tubulaire rénale. Cette technique permet en effet d'étudier la structure interne des membranes (6) dans lesquelles les jonctions serrées apparaissent comme des différenciations spécifiques (18,23) et facilement quantifiables.

MATERIEL ET METHODES

Nous avons utilisé pour cette étude des rats Wistar qui avaient libre accès à l'eau et à la nourriture. Les reins de ces animaux ont été fixés soit par immersion dans une solution de glutaraldehyde à 4% dans un tampon phosphate (0.1 M, pH 7,4) (29), soit par perfusion de l'animal entier avec le même fixateur mais à concentration plus basse (2% de glutaraldehyde) (11). Des fragments de tissu rénal sont ensuite cryodécapés suivant la technique de Moor et coll. (25), dans des unités de cryo-

décapage Balzers 301. Pour la microscopie électronique conventionnelle en coupe fine, nous avons utilisé des techniques spéciales visant à mettre en évidence les jonctions serrées.

Nous avons utilisé :

- 1) la coloration en bloc par l'acétate d'uranyle (17), qui permet d'obtenir une bonne définition de la structure trilaminaire des membranes cellulaires;
- 2) la peroxydase de raifort (14), qui est un traceur de l'espace extracellulaire de taille relativement élevée (PM 40.000);
- 3) le lanthane (28) sous forme colloïdale (hydroxyde de lanthane pH 7,8), qui est un traceur de l'espace extracellulaire de petite taille;
- 4) le bleu Alcian (1), qui met en évidence le glycocalyx (couche de glycoprotéines présentes à la surface de la membrane cellulaire) et qui peut aussi délimiter l'espace extracellulaire.

Avant ou après ces traitements spécifiques, le tissu a été postfixé à l'acide osmique 2% dans un tampon phosphate (24), déshydraté dans des concentrations croissantes d'alcool et enrobé dans l'Epon (19). Les coupes fines pour la microscopie électronique conventionnelle ont été obtenues à l'aide de couteaux de verre ou de diamant et colorées au citrate de plomb (32). Les répliques de cryodécapage, comme les coupes fines, ont été examinées dans un microscope électronique Philips EM 300.

RESULTATS

A. Microscopie électronique conventionnelle

En accord avec ce qui a été décrit dans la littérature (7,10), nous constatons que dans notre matériel, la jonction

serrée a une extension variable suivant le segment des tubes rénaux considérés : dans le tube proximal, la jonction serrée est souvent réduite à une zone de contact ponctuelle. Celle-ci est située près de la surface luminale des cellules tubulaires. Plus en retrait, on observe d'autres types de jonctions cellulaires qui n'ont apparemment pas de fonction dans l'oblitération de l'espace extracellulaire et qui n'interviennent donc probablement pas dans la modulation du flux paracellulaire. Ces jonctions sont les nexus, les desmosomes et les jonctions adhérentes. On admet que les desmosomes et les jonctions adhérentes ont essentiellement une fonction dans l'adhésion entre les cellules (23) alors que les nexus seraient responsables du couplage intercellulaire (électrique ou métabolique) (9,23,27). Dans le segment grêle de l'anse de Henle, la jonction serrée a aussi une extension très réduite. Au contraire, au niveau du tube distal, la jonction serrée intéresse une zone plus étendue des membranes adjacentes. Le développement des jonctions serrées atteint son maximum au niveau des cellules du tube collecteur.

Lorsque le tissu a été mis en présence d'hydroxyde de lanthane pendant la fixation, on obtient des résultats différents suivant le segment tubulaire considéré. Dans le tube proximal, le lanthane remplit l'espace intercellulaire jusqu'au niveau de la jonction serrée : la zone de fusion membranaire ne semble pas pénétrée par le traceur. Cette zone focale de fusion doit cependant, soit présenter de rares discontinuités (22), soit disparaître dans certaines conditions. En effet, les travaux de Whittembury et Rawlins (33) et de Tisher et Yarger (31) cités plus haut ont démontré que lorsqu'on injecte du lanthane par microponction dans la lumière d'un tube proximal on retrouve régulièrement le traceur dans l'espace intercellulaire au-delà de la jonction serrée. Au niveau de la partie grêle de l'anse

de Henle, la jonction serrée apparaît imperméable au traceur (7), alors qu'au niveau du tube distal on retrouve toujours le lanthane à l'intérieur de la jonction serrée. Cette dernière se présente comme une succession de dilatations remplies par le traceur et de rétrécissements correspondant à des zones de fusion. La jonction serrée du tube distal montre donc une certaine perméabilité au lanthane et les zones de fusion que l'on observe sont probablement focales. La longue jonction serrée du tube collecteur n'est le plus souvent pas pénétrée par le lanthane. Lorsqu'on utilise un traceur de poids moléculaire élevé comme la péroxydase (PM 40.000) on observe que celui-ci ne pénètre les jonctions serrées à aucun niveau des tubules rénaux.

B. Cryodécapage

Lorsque le plan de fracture a exposé l'intérieur des membranes plasmiques à l'endroit où la microscopie électronique conventionnelle a localisé la fusion de feuilletts externes caractéristiques d'une jonction serrée, on peut observer un réseau de crêtes sur la face A et un réseau complémentaire de sillons sur la face de fracture B. Ces images diffèrent donc très nettement de celles rencontrées dans les zones non jonctionnelles de la membrane qui se présentent comme des surfaces lisses contenant un nombre variable de particules globulaires. C'est ainsi que la jonction serrée peut s'identifier sans ambiguïté en cryodécapage. Si l'on considère l'aspect des différenciations membranaires caractéristiques des jonctions serrées (crêtes sur la face A, sillons sur la face B) au niveau des divers segments tubulaires, on observe des différences remarquables. Au niveau du tube proximal, les éléments qui constituent la jonction serrée sont en général peu nombreux. Dans

la plupart des cas, ces éléments se limitent à un ou deux rangs de crêtes qui s'étendent perpendiculairement à l'axe des microvillosités. De plus, ces crêtes présentent souvent des zones de discontinuités contenant des particules intramembranaires disposées comme dans les zones non-jonctionnelles de la membrane plasmique. Rarement la membrane jonctionnelle contient plus de 3 crêtes ou sillons. Dans ces cas, ces éléments montrent le plus souvent une disposition parallèle et sont peu ramifiés. Au niveau de l'anse grêle de Henle, la jonction serrée est constituée le plus souvent d'un seul élément linéaire, occasionnellement de deux ou trois éléments parallèles. Les crêtes sur la face A apparaissent différentes de celles observées au niveau des autres segments du néphron et du tube collecteur. Elles sont en effet pratiquement toujours continues et plus épaisses. Au niveau du tube distal, les éléments de la jonction serrée sont plus nombreux qu'au niveau du tube proximal ou au niveau de l'anse grêle de Henle. Ces éléments sont en général parallèles et rapprochés, de telle sorte que l'épaisseur totale de la jonction dans le sens apico-basal est relativement réduite. Comme dans le tube proximal, les crêtes montrent peu de ramifications. Au niveau du tube collecteur, les éléments de la jonction serrée sont nombreux. De plus, à la différence de ce que l'on a décrit ci-dessus pour le tube proximal et distal, ces éléments sont plus ramifiés et forment un réseau complexe qui atteint une extension environ trois fois plus grande que celle du tube distal. Les résultats de l'étude quantitative effectuée sur les jonctions serrées au niveau des différents segments tubulaires sont présentés dans un tableau (voir page 13). Ce tableau donne également les valeurs, publiées dans la littérature, de la résistance électrique transépithéliale de ces différents segments.

DISCUSSION

En étudiant des répliques de tissu rénal obtenues par la technique du cryodécapage, nous avons observé au niveau des cellules épithéliales de tous les segments tubulaires la présence de différenciations membranaires caractéristiques des jonctions serrées. L'intérêt principal d'une telle étude a été de permettre une évaluation quantitative de leur morphologie et de leur extension. Nos résultats montrent que les jonctions serrées dans les tubes du néphron diffèrent de celles présentes dans la plupart des autres épithéliums (12, 23, 30). En effet, au lieu de former comme dans ces derniers des réseaux étendus de crêtes ou de sillons, les éléments jonctionnels des tubes du néphron ne présentent le plus souvent que des arrangements parallèles et peu ramifiés. Ce n'est qu'au niveau du tube collecteur que l'on trouve des éléments jonctionnels formant un véritable réseau s'étendant largement sur les faces membranaires. Dans une étude récente réalisée avec la technique du cryodécapage dans différents épithéliums de Vertébrés, Claude et Goodenough (8) ont montré l'existence d'une relation entre le nombre d'éléments jonctionnels et la perméabilité transépithéliale mesurée comme résistance électrique. Ils ont montré qu'un épithélium "perméable" ne possède que quelques éléments jonctionnels, alors qu'un épithélium "impermeable", en possède beaucoup. Cette relation entre le nombre d'éléments jonctionnels et la perméabilité transépithéliale s'applique également aux tubules rénaux puisque les valeurs de résistance électrique transépithéliale (3, 15, 16, 21) sont en général d'autant plus élevées (indiquant donc une faible perméabilité) que le nombre d'éléments jonctionnels entre les cellules est grand (cf. Tableau). Cependant, si l'on prend comme mesure de la perméabilité à travers l'épithélium, non pas la résistance électrique mais la diffusion de traceurs

tels que le lanthane, on se trouve en face d'une situation différente. En effet, comme l'ont montré les résultats de Tisher et Yarger (31), les jonctions serrées du tube proximal et distal sont pénétrées par le lanthane alors que celles du tube collecteur ne permettent pas la diffusion du traceur. La différence de perméabilité entre tube proximal et tube collecteur s'explique facilement par le faible développement de la jonction serrée au niveau du tube proximal. En revanche, une explication n'est pas immédiatement évidente pour la différence de perméabilité au lanthane observée entre le tube distal et le tube collecteur. Nous avons vu en effet que le nombre total des éléments jonctionnels (crêtes ou sillons) présents à ces deux niveaux n'est pas très différent (cf. Tableau). Cependant, si l'on tient compte d'un second paramètre morphologique, c'est-à-dire non seulement du nombre d'éléments jonctionnels, mais aussi de la disposition de ceux-ci dans le plan de la membrane, on note alors une différence significative entre les jonctions du tube distal et celles du tube collecteur. La jonction serrée du tube distal a le plus souvent ses éléments disposés de façon parallèle; ceux du tube collecteur sont orientés selon plusieurs directions et sont ramifiés, de sorte qu'ils se présentent sous la forme d'un réseau. Cette différence nous amène donc à une nouvelle interprétation de la relation existant entre le degré de développement d'une jonction serrée et la perméabilité épithéliale. La perméabilité d'une jonction serrée ne serait pas uniquement fonction du nombre d'éléments jonctionnels mais également de la disposition de ces éléments dans le plan de la membrane. Une jonction imperméable serait donc une jonction dont les éléments sont non seulement nombreux, mais aussi extensivement ramifiés et anastomosés; une telle jonction n'existe, dans le rein, qu'au niveau du tube collecteur.

Une autre contribution potentiellement intéressante de notre étude en cryodécapage est la mise en évidence de brusques transitions dans le nombre et la disposition des éléments jonctionnels sur une même cellule. Si l'on applique les concepts développés plus haut concernant le rôle du nombre et de la disposition des éléments jonctionnels dans la perméabilité intercellulaire, on pourrait envisager l'hypothèse que les zones de transition soient l'expression morphologique de changements locaux de perméabilité. Il ne s'agirait plus dans ce cas de variations de perméabilité d'un segment de tube à l'autre, mais de changements de perméabilité au niveau d'un même segment. Une telle possibilité pourrait être évaluée en étudiant les tubes rénaux par cryodécapage dans des conditions où la résistance électrique transépithéliale d'un segment tubulaire donné varie. De telles conditions semblent réalisées au cours de la diurèse saline que l'on peut induire dans le rein de l'axolotl (*Necturus maculosus*). On a pu mesurer en effet que la diurèse saline détermine une diminution de la résistance électrique au niveau du tube proximal (4) et que celle-ci semble s'accompagner d'un changement de l'étendue de la jonction serrée (2). Ces conclusions ne résultent cependant que de mesures semi-quantitatives, sur coupe fine, de l'étendue des jonctions et seule une étude en cryodécapage permettra de les évaluer de façon satisfaisante.

RESUME

La caractérisation morphologique et quantitative des jonctions serrées a été entreprise au niveau des tubules du rein. Les jonctions serrées sont des zones dans lesquelles les feuillettes externes de deux membranes plasmiques adjacentes sont fusionnés et oblitèrent l'espace intercellulaire. De par cette structure particulière, les jonctions serrées déterminent en partie la perméabilité d'un épithélium vis-à-vis de substances diffusant dans les espaces intercellulaires. Dans cette étude, deux techniques de microscopie électronique ont été employées : 1) la coupe fine, avec ou sans utilisation de traceur de l'espace extracellulaire; 2) le cryodécapage qui est une méthode récente permettant de visualiser l'intérieur des membranes cellulaires et d'y caractériser aisément les jonctions serrées. Les deux techniques montrent que les jonctions serrées entre les cellules du tube contourné proximal et du segment grêle de l'anse de Henle sont très peu développées et ne se composent souvent que d'une seule ligne de fusion entre les feuillettes externes des membranes plasmiques adjacentes. La ligne de fusion peut même présenter des discontinuités au niveau du tube proximal. Dans le tube distal, les jonctions serrées sont plus développées et contiennent dans la plupart des cas 5 à 6 lignes de fusion membranaire. Le tube collecteur présente les jonctions serrées les plus étendues (8 à 9 lignes de fusion membranaire). L'étude en cryodécapage montre que non seulement le nombre, mais aussi l'organisation des lignes de fusion membranaire constituant les jonctions serrées, sont variables d'un segment à l'autre des tubes rénaux. Les jonctions serrées des tubes du néphron

(tube proximal, anse grêle de Henle et tube distal) contiennent le plus souvent des lignes de fusion disposées parallèlement, alors que celles du tube collecteur sont constituées de lignes anastomosées formant un réseau. Ces données ont été comparées aux études fonctionnelles de la perméabilité tubulaire rénale mesurant soit la résistance électrique transépithéliale, soit la diffusion de traceurs de l'espace extracellulaire injectés dans la lumière tubulaire. La comparaison de ces divers résultats permet d'interpréter fonctionnellement la morphologie des jonctions serrées au niveau du rein : a) la perméabilité transépithéliale est d'autant plus faible (résistance électrique élevée) que les jonctions serrées entre les cellules épithéliales sont développées, c'est-à-dire que le nombre de lignes de fusion est grand; b) pour un nombre de lignes de fusion donné, une jonction serrée dans laquelle ces lignes sont disposées de façon parallèle est plus perméable qu'une jonction composée de lignes de fusion arrangées en réseau.

TABLEAU

Morphologie des jonctions serrées comparée aux données électrophysiologiques dans les différents segments des tubes rénaux chez le rat.

SEGMENT TUBULAIRE	RESISTANCE TRANSEPITHÉLIALE (Ohms x cm ²)	NOMBRE D'ÉLÉMENTS JONCTIONNELS ¹			LARGEUR DANS LE SENS APICO-BASAL ² (nanomètres)			N
		valeur maximale	valeur minimale	valeur la plus fréquente	valeur maximale	valeur minimale	valeur la plus fréquente	
PROXIMAL	5-7 ³	6	0	1-2	150	0	0-10	39
HENLE		3	1	1	30	10	15	20
DISTAL	350 ⁴	11	2	5-6	210	30	90	10
COLLECTEUR	867 ⁵	14	6	8-9	400	140	300	19

N : nombre de micrographies électroniques examinées.

1 : le nombre d'éléments jonctionnels a été compté à cinq endroits différents pour chaque jonction serrée.

2 : les mesures ont été faites sur des micrographies électroniques exposant les jonctions sur une distance minimale de 0,5 micromètres et révélant leur entière extension dans le sens apicobasal.

3 : cf. références 3 et 15.

4 : cf. référence 21.

5 : cf. référence 16. Valeur pour le tube collecteur de lapin.

BIBLIOGRAPHIE

1. BEHNKE O. et ZELANDER T. 1970. Preservation of intercellular substances by the cationic dye Alcian blue in preparative procedures for electron microscopy. J. Ultr. Res. 31, 424.
2. BENTZEL C.J. 1972. Proximal tubule structure-function relationships during volume expansion in Necturus. Kidney International, Vol. 2, 324.
3. BOULPAEP E.L. 1971. Electrophysiological properties of the proximal tubule : importance of cellular and intercellular transport pathways. In : Electrophysiology of epithelial cells. Edited by Giebisch G., F.K. Schattauer Verlag Stuttgart p. 91.
4. BOULPAEP E.L. 1972. Permeability changes of the proximal tubule of Necturus during saline loading. Am. J. Physiol. 222, 517.
5. BRANTON D. 1969. Membrane structure. Ann. Rev. Plant. Physiol. 20, 209.
6. BRANTON D. 1971. Freeze-etching studies of membrane structure. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B 261, 133.
7. BULGER R.E. 1971. Ultrastructure of the junctional complexes from the descending thin limb of the loop of Henle from rats. Anat. Rec. Vol. 171, No 4, 471.
8. CLAUDE P. et GOODENOUGH D.A. 1973. Fracture faces of zonulae occludentes from tight and leaky epithelia. J. Cell Biol. 58, 390.
9. DREIFUSS J.J., GIRARDIER L. et FORSSMANN W.G. 1966. Etude de la propagation de l'excitation dans le ventricule de rat au moyen de solutions hypertoniques. Pflügers Archiv 292, 13.
10. FARQUHAR M.G. et PALADE G.E. 1963. Junctional complexes in various epithelia. J. Cell Biol. 17, 375.

11. FORSSMANN W.G., SIEGRIST G., ORCI L., GIRARDIER L., PICTET R. et ROUILLER Ch. 1967. Fixation par perfusion pour la microscopie électronique. Essai de généralisation. *Journal de Microscopie*, Vol. 6, No. 3, 279.
12. FRIEND D.S. et GILULA N.B. 1972. Variations in tight and gap junctions in mammalian tissues. *J. Cell Biol.* 53, 758.
13. FROMTER E. et DIAMOND J. 1972. Route of passive ion permeation in epithelia. *Nature New Biology*, Vol. 235, 9.
14. GRAHAM R.C. et KARNOVSKY M.J. 1966. The early stages of absorption of horseradish peroxidase in the proximal tubule of mouse kidney : ultrastructural cytochemistry by a new technique. *J. Histochem. Cytochem.* Vol. 14, No. 4, 291.
15. HEGEL U., FROMTER E. et WICK T. 1967. Der elektrische Widerstand des proximalen Konvolutes der Rattenniere. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 294, 274.
16. HELMAN S.I., GRANTHAM J.J. et BURG M.B. 1971. Effect of vasopressin on electrical resistance of renal cortical collecting tubules. *Am. J. Physiol.* 220, 1825.
17. KARNOVSKY M.J. 1967. The ultrastructural basis of capillary permeability studied with peroxidase as a tracer. *J. Cell Biol.* 35, 213.
18. KREUTZIGER G.O. 1968. Freeze-etching of intercellular junctions of mouse liver. *Proc. of the 26th meeting of the Electron Microscope Society of America*. Claitor's publishing division Baton Rouge, La 234.
19. LUFT J.H. 1961. Improvements in epoxy resin embedding methods. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 9, 409.
20. MACHEN T.E., ERLIJ D. et WOODING F.B.P. 1972. Permeable junctional complexes. *J. Cell Biol.* Vol. 54, 302.
21. MALNIC G. et GIEBISCH G. 1972. Some electrical properties of distal tubular epithelium in the rat. *Am. J. Physiol.* 223, 797.
22. MARTINEZ-PALOMO A. et ERLIJ D. 1973. The distribution of lanthanum in tight junctions of kidney tubule. *Pflügers Arch.* 343, 267.
23. McNUTT N.S. et WEINSTEIN R.S. 1973. Membrane ultrastructure at mammalian intercellular junctions. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. Vol. 26, p. 47.

24. MILLONIG G. 1961. Advantages of a phosphate buffer for OsO₄ solutions in fixation. *J. Appl. Physics* 32, 1637.
25. MOOR H., MÜHLETHALER K., WALDNER H. et FREY-WYSSLING A. 1961. A new freezing ultramicrotome. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 10, 1.
26. MOOR H. 1966. Use of freeze-etching in the study of biological ultrastructure. *Int. Rev. Exp. Path.* Vol. 5, 179.
27. PAYTON B.W., BENNETT M.V.L. et PAPPAS G.D. 1969. Permeability and structure of junctional membranes at an electronic synapse. *Science* 166, 1641.
28. REVEL J.P. et KARNOVSKY M.J. 1967. Hexagonal array of subunits in intercellular junctions of the mouse heart and liver. *J. Cell Biol.* 33, C₇.
29. SABATINI D.D., BENSCH K. et BARNETT R.J. 1963. Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. *J. Cell Biol.* 17, 19.
30. STAEHELIN L.A., MUKHERJEE T.M. et WILLIAMS A.W. 1969. Freeze-etch appearance of the tight junctions in the epithelium of small and large intestine of mice. *Protoplasma* 67, 165.
31. TISHER C.C. et YARGER W.E. 1973. Lanthanum permeability of the tight junctions (zonula occludens) in the renal tubule of the rat. *Kidney International*. Vol. 3, 238.
32. VENABLE J.H. et COGGESHALL R.E. 1965. A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 25, 407.
33. WHITTEMBURY G. et RAWLINS F.A. (1971). Evidence for a paracellular pathway for ion flow in the kidney proximal tubule : electron microscopic demonstration of lanthanum precipitate in the tight junction. *Pflügers Arch.* 330, 302.

